

77
THESIS

MUNICH

1965

**Das Verhalten individueller Serumphosphatide
bei Leberkrankheiten und Hypercholesterinämie**

LANE MEDICAL LIBRARY OF
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR
PALO ALTO, CALIFORNIA

Dita Scholderer



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153515_0132

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER
UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. W. Seitz

Das Verhalten individueller Serumphosphatide bei Leberkrankheiten und Hypercholesterinämie

Inaugural-Dissertation

**zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München**

vorgelegt von

Dita Scholderer
aus Hamburg

München 1965

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Prof. Dr. N. ZÖLLNER

Korreferent: Prof. Dr. W. SEITZ

Dekan: Prof. Dr. O. HUG

Tag der mündlichen Prüfung: 13.4.1965

INHALT

I.	EINLEITUNG	5
II.	METHODIK	7
	Lipoidextrakt	7
	Vorbereitung der Platten	7
	Auftragen der Substanzen und Chromatographie	7
	Elution und Phosphorbestimmung	8
III.	ERGEBNISSE UND DISKUSSION	10
	Normalwerte	10
	Leberkrankheiten	11
	Hypercholesterinämie	13
IV.	VERSUCHE ZUR AUFLÄRUNG DER SPHINGOMYELINFRAKTION	15
	Färbungsversuche	15
	Milde Alkalihydrolyse der Glycerinphosphatide	16
	Hydrolyse des Sphingomyelins mit Ba(OH)_2	16
V.	TABELLEN	18
VI.	ABBILDUNGEN	23
VII.	ZUSAMMENFASSUNG	25
VIII.	LITERATUR	26

I. EINLEITUNG

Die einzelnen Gruppen der Phosphatide unterscheiden sich voneinander entweder durch ihre Alkoholkomponente (Glycerin- und Sphingosinphosphatide) oder durch die über Phosphorsäure gebundene organische Base (Cholinphosphatide, Serin- und Colaminkephalin). Variationsmöglichkeiten innerhalb der so eingeteilten Gruppen sind durch Bindung unterschiedlicher Fettsäuren gegeben.

Mit den Methoden der Säulen-, Papier- und Dünnschichtchromatographie lassen sich folgende Fraktionen der Serumphosphatide gut voneinander trennen: Lecithin, Lysolecithin, Sphingomyelin und Colaminkephalin. Darüber hinaus wurden auch Serinkephalin, Lysokephalin, Inositphosphatid und Phosphatidsäure nachgewiesen (13, 16, 17, 27 u. a.). Die so getrennten Substanzen unterscheiden sich voneinander also -abgesehen von den Lysoverbindungen- nur in ihrem Basen- oder Alkoholanteil. Eine noch weitere Auftrennung der Phosphatide nach Fettsäuren und damit in chemisch ganz einheitliche Fraktionen, das Endziel der Chromatographie, ist bisher noch nicht gelungen. Nach den hierzu notwendigen Bedingungen zu suchen erscheint jedoch erst dann sinnvoll, wenn die durch die vorhandenen Methoden gegebenen Möglichkeiten voll ausgeschöpft sind. In der vorliegenden Arbeit soll daher erstens geprüft werden, ob auch bei normalen Gesamtposphatidwerten pathologisch erhöhte oder erniedrigte Mengen einzelner Phosphatidgruppen vorkommen und zweitens, ob an stark erhöhten Gesamtwerten die einzelnen Gruppen unterschiedlich stark beteiligt sind. Beide Fragen sind zunächst von pathophysiologischem Interesse, je nach dem Ergebnis und dessen Beeinflussbarkeit könnten sie aber auch klinisch Bedeutung erlangen.

Die Bedingungen zur Trennung der Phosphatide auf der Dünnschicht wurden zuerst von WAGNER (22) angegeben, die Möglichkeit, die so gewonnenen Fraktionen quantitativ zu bestimmen, von HABERMANN und Mitarb. (8). Die Bestimmung der kleinen Fraktionen Lysokephalin, Serinkephalin und Inositphosphatid bereitet Schwierigkeiten erstens wegen ihrer ungenügenden Trennbarkeit von den Hauptfraktionen, zweitens wegen der minimalen Mengen, in denen sie im menschlichen Serum vorhanden sind; für eine quantitative Bestimmung müsste eine so grosse Menge Gesamtposphatide zur Chromatographie aufgetragen werden, dass die Trennschärfe der grossen Fraktionen verschlechtert würde. Andererseits fällt ihre Vernachlässigung nicht sehr ins Gewicht, da sie insgesamt keine 5 % der Gesamtposphatide ausmachen.

Der Vorteil der hier angewandten Dünnschichtchromatographie gegenüber anderen chromatographischen Methoden liegt hauptsächlich in der Zeitersparnis, ausserdem gegenüber der Säulenchromatographie, bei der bisher keine scharfe Trennung von Sphingomyelin und Lecithin erreicht wurde, in der besseren Trennschärfe und gegenüber der Papierchromatographie in leichterem Einsetzen der getrennten Substanzen in eine quantitative Analyse.

II. METHODIK

In den Seren von 11 gesunden Versuchspersonen, sowie Patienten mit Hepatitis, Lebercirrhose oder Hypercholesterinämie wurden die Gesamtposphatide und ihre Anteile an Lysolecithin, Sphingomyelin, Lecithin und Kephalin quantitativ bestimmt.

LIPIDEXTRAKT

Ein Lipidextrakt wurde nach dem von SPERRY (18) angegebenen Verfahren hergestellt: 1 ml Serum wird in 8,3 ml Methanol gefällt; nach Zugabe von etwa 9 ml Chloroform wird die Lösung bei ca. 70°C kurz zum Sieden gebracht, abgekühlt und mit Chloroform auf 25 ml aufgefüllt, dann gut gemischt und möglichst schnell durch ein weiches Faltenfilter filtriert. 20 ml des Filtrats werden in einen Schüttelzylinder umgefüllt und mit 4 ml 0,2 %iger CaCl_2 -Lösung versetzt, kräftig geschüttelt und, zur Trennung der unteren, die Lipide enthaltenden Chloroformphase von der oberen Methanol-Wasser-Phase, über Nacht stehen gelassen.

VORBEREITUNG DER PLATTEN

Grosse Chromatographieplatten (20 x 20 cm) wurden mit Chloroform gereinigt, mit einer 0,25 mm dicken Kieselgelschicht (30 g Kieselgel G, Merck, auf 70 ml aqua bidest.) versehen und anschliessend 30 Min. bei 110°C getrocknet. Die beschichteten Platten sollten bis zur Chromatographie nicht länger als 2-3 Tage aufbewahrt werden, da sich sonst die Trennschärfe verschlechtert (auch bei Aufbewahrung über Blaugel).

Vor dem Auftragen der Lipide wurden die so präparierten Platten durch Vorlaufen in einer Chromatographiekammer mit Aceton gereinigt und dann in 2 cm breite Bahnen eingeteilt; 3 cm vom unteren Rand wurde die Auftragshöhe und 3 cm vom oberen Rand die Höhe der Laufstrecke markiert.

AUFTRAGEN DER SUBSTANZEN UND CHROMATOGRAPHIE

Je nach Menge der Gesamtposphatide wurden von dem Lipidextrakt 5-8 ml im Wasserbad bei etwa 70°C eingedampft und in 0,2 ml Chloroform wieder gelöst. Hiervon wurden auf drei Bahnen der vorbereiteten Chromatographieplatte je 0,02 ml mit einer feinen, möglichst spitz zulaufenden Pipette bandförmig aufgetragen, d.h. es wurden möglichst feine Tropfen dicht neben-

einander gesetzt und so die Breite der Bahnen fast vollständig ausgenutzt.

Die Chromatographiekammer wird mit Filterpapier ausgelegt, dieses durch Kippen der Kammer mit Fliessmittel getränkt und so das Kammerinnere mit dem verdunstenden Fliessmittel weitgehend gesättigt, bevor man die Chromatographieplatte hineinstellt.

Als Fliessmittel wurde das von WAGNER (22) angegebene Gemisch Chloroform : Methanol : Wasser = 65 : 25 : 4 (v : v : v) benutzt. Es darf erst kurz vor der Chromatographie zubereitet werden, damit sich durch unterschiedlich schnelles Abdunsten der einzelnen Anteile die Zusammensetzung nicht ändert.

Bei einer Laufstrecke von 14 cm beträgt die Dauer der Chromatographie etwa 40 Minuten. Die herausgenommene Platte wurde nach dem Trocknen gleichmässig mit einer wässrigen Kaliumpermanganatlösung besprüht, bis die Phosphatidflecken sich deutlich gelb von violetterm Grund abhoben (selbstverständlich können auch andere Sprühreagentien wie Bromthymolblau, Rhodamin 6G u. a. benutzt werden).

ELUTION UND PHOSPHORBESTIMMUNG

Die angefärbten Fraktionen stellen, nach steigenden R_f -Werten aufgezählt, Lysolecithin, Sphingomyelin, Lecithin und Kephalin dar und sind deutlich genug voneinander getrennt, dass später abzukratzende Felder durch zwischen den Flecken gezogene Querstriche abgegrenzt werden können.

Die Schicht der so abgegrenzten Felder wurde mit einem Spatel abgekratzt, in einem Trichter aufgefangen und mit 5 ml Methanol in Zentrifugengläser gespült. Der durch kleine, dabei auf der Glasplatte bleibende Kieselgelreste entstehende Verlust ist sicherlich gering, da durch den Fliessmittelstrom von glasnahen Teilen der Schicht zur freien Oberfläche diese sich mit Substanzen anreichert (28). Ausserdem wurden von den freigelassenen Bahnen drei Felder von der Grösse 1,5 x 2 cm als Kieselgelleerwerte abgekratzt und zur Kontrolle auf etwaige phosphorhaltige Verunreinigung des Kieselgels bzw. des Sprühreagentiums in die weitere Analyse mit eingesetzt.

Nach mehrfachem gründlichen Aufrühren des Kieselgels wurde zentrifugiert und ein aliquoter Teil des Methanols (4 ml) in Reagensgläser pipettiert, im Wasserbad eingedampft und zur Phosphorbestimmung nach BARTLETT (1) eingesetzt; die Proben werden mit je 0,5 ml 10 n H_2SO_4 versetzt und 6 Stunden bei 160°C verascht, wobei man nach 4 Stunden unterbricht, um je 2 Tropfen Peroxyd zuzugeben. Der Rückstand beträgt noch 0,2 ml. Hierzu werden 0,4 ml Ammoniummolybdat und 0,2 ml Reduktionsmittel gegeben, jeweils gut geschüttelt und das Volumen mit aqua bidest. auf 5 ml gebracht. Anschliessend werden die Gläser mit Glaskugeln abgedeckt und 7 Min. in ein kochendes Wasserbad gestellt. Die Färbung durch das entstandene Phosphormolybdänblau ist dem Phos-

phorgehalt proportional und ist -nach dem Abkühlen der Gläser- bei 830 m μ im Zeiss-Spektralphotometer abzulesen. Die Extinctionswerte für Eichlösungen von 1 γ P lagen zwischen 0,160 und 0,180. Bei jeder Analyse liefen in je dreifacher Probe unveraschte und veraschte Eich- und Reagentienleerwerte, sowie die oben beschriebenen Kieselgelleerwerte mit. Die für letztere abgekratzten Kieselgelfelder lagen in der Grösse zwischen dem grössten (dem Lecithin-) und dem kleinsten (dem Kephalin-) Fleck. Grössere Kieselgelmengen ergaben jedoch keine höheren Extinctionswerte; auch lagen die Kieselgelleerwerte nicht oder nur sehr wenig über den reinen Reagentienleerwerten, so dass es nicht notwendig erschien, Kieselgelfelder, die der genauen Grösse der Phosphatidflecken entsprachen, abzukratzen oder sie auf deren Grösse umzurechnen (15).

Um die Leerwerte, deren Extinctionswerte 0,030 nicht überschreiten sollten, möglichst niedrig zu halten, wurden alle benutzten Gläser vorher in Bichromatschwefelsäure gereinigt und nur aqua bidest. benutzt. Sollte das beim Veraschen benutzte Peroxyd nicht ganz phosphorfrei sein und so den Leerwert erhöhen, so kann man es noch in einer Verdünnung bis 1 : 20 verwenden.

BIRD und Mitarb. (2) beschrieben die Trennung der Substanzen von der Chromatographieplatte mit sog. "collection and elution tubes" (Modifikation einer von CERNY angegebenen Methode (5)): ein 14 cm langes Glasrohr von 7 mm Durchmesser wird in einem Winkel von 120° gebogen, dessen Schenkel 9 und 5 cm lang sind. In das verengte Ende des längeren Schenkels wird ein Wattebausch gepresst und das Glas mit diesem Ende an eine Wasserstrahlpumpe angeschlossen, so dass das Kieselgel mit dem freien Ende abgeschabt und dann aufgesaugt werden kann, wobei es sich an der Watte ansammelt. Anschliessend hängt man das Glas mit dem zugespitzten Ende nach unten über ein Reagensglas und lässt Lösungsmittel zur Elution des Lipoids durchlaufen.

Da die Leerwerte bei dieser Methode auch nach Vorwaschen der Watte mit Alkohol oder Methanol höher lagen als bei der oben beschriebenen Methode, wurde auf die Anwendung dieses an sich schnelleren und einfacheren Verfahrens verzichtet.

Grundsätzlich ist auch eine quantitative Bestimmung der einzelnen Lipoidfraktionen mit der Sulfophosphovanillinreaktion nach ZÖLLNER und KIRSCH (25) möglich. Die Empfindlichkeit der Reaktion lässt sich steigern, indem man Küvetten mit längerem Lichtweg wählt, weniger Reagens anwendet und -speziell für die Bestimmung von Phosphatiden- den Vanillinaldehyd durch Anisaldehyd ersetzt. Allerdings wird hierbei das Lysolecithin wegen des Mangels an ungesättigten Fettsäuren nicht miterfasst. Ausserdem müsste wegen des ungleichen Anteils an Doppelbindungen für jede der übrigen Fraktionen ein eigener Umrechnungsfaktor ermittelt werden.

III. ERGEBNISSE UND DISKUSSION

NORMALWERTE

Die zur Bestimmung von Normalwerten verwandten Seren stammten zum Teil von gesunden Versuchspersonen, zum Teil von kranken, bei denen keine Veränderung der Lipoidwerte zu erwarten war (Diagnosen s. Tab. I) und bei denen der Gehalt an Gesamtphosphatiden im Bereich der Norm lag. Die Ergebnisse von insgesamt 11 untersuchten Seren mit Gesamtphosphatidwerten zwischen 188 und 262 mg% sind in Tab. I wiedergegeben. Der Berechnung liegen die Lipoidphosphorwerte multipliziert mit 25 zugrunde. Die Relativwerte der einzelnen Fraktionen wurden aus den Extinctionen berechnet, ihre Absolutbeträge aus dem prozentualen Anteil an den Gesamtphosphatiden. Eine Berechnung der getrennten Fraktionen aus der Auftragsmenge bei der Chromatographie wäre zu ungenau, da beim Auftragen stets ein Teil des Lösungsmittels an der Pipette bleibt und verdunstet, so dass ein quantitativ exaktes Auftragen nicht möglich ist.

Das Alter der Versuchspersonen lag zwischen 15 und 75 Jahren, wobei jedes Altersdezennium mindestens einmal vertreten war. Eine Altersabhängigkeit der Werte liess sich jedoch nicht feststellen, allerdings wegen der geringen Zahl der Fälle auch nicht ausschliessen.

Die Durchschnittswerte betragen: Lysolecithin 7,1 %, Sphingomyelin 16 %, Lecithin 74,8 % und Kephalin 2,2 % der Gesamtphosphatide.

In Tabelle II sind chromatographisch ermittelte Normalwerte anderer Autoren zusammengestellt. Sie stimmen im wesentlichen mit den hier angegebenen überein, doch liegen die Relativwerte für Lecithin bei allen anderen etwas niedriger und die für Sphingomyelin etwas höher. Es läge nahe, als Ursache für diese Verschiebung eine Verunreinigung der Lecithinfraktion mit Sphingomyelin bei der Dünnschichtchromatographie zu vermuten; dies kann jedoch durch milde Alkalihydrolyse der Cholinphosphatide und anschliessende Rechromatographie des Sphingomyelins ausgeschlossen werden. Die Erhöhung der Lecithinwerte durch Miterfassen des Lysolephalins, das bei der Dünnschichtchromatographie im unteren Bereich der Lecithinfraktion liegt (27), ist wohl zu gering, um als Erklärung herangezogen zu werden. Bei ZÖLLNER und KIRSCH (26) ist eine nicht identifizierte Fraktion der Säulenchromatographie beschrieben, die 2,5 % der Gesamtphosphatide ausmacht und nur mit Wahrscheinlichkeit als Sphingomyelin gedeutet, nicht aber dazu gerechnet wurde. Ohne diese 2,5 % stimmt der Wert von 16,8 % Sphingomyelin mit dem hier ermittelten von 16 % gut überein. Die Ergebnisse der Dünnschichtchromatographie sprächen dann dafür, dass es sich bei der fraglichen Fraktion nicht um Sphingomyelin han-

delt. Der Lecithinanteil liegt allerdings auch bei ZÖLLNER und KIRSCH (26) mit 66,8 % wesentlich unter dem von 74,8 %.

Die Abweichungen gegenüber den Ergebnissen der Papierchromatographie lassen sich evtl. durch die unterschiedlich grossen Substanzmengen, die am Auftragspunkt liegenbleiben, erklären. So bleibt bei der Chromatographie mit kiesel-säureimprägniertem Papier hauptsächlich Lecithin, und zwar 7-10 % des gesamten Lecithins, am Start liegen (24), während die zurückbleibende Menge bei der Dünnschichtchromatographie nur 1 % der Gesamtphosphatide ausmacht (8). Rechnet man nach diesen Angaben die papierchromatographisch ermittelten Werte von Tab. II um, so ergibt sich eine annähernde Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Dünnschichtchromatographie.

LEBERKRANKHEITEN

Verschiebungen im Phosphatidmuster sind bisher bei Leberkrankheiten (14) und Nephrosen (13) beschrieben worden; hier wurden nur Seren von Leberkranken, und zwar von zwei Patienten mit Hepatitis und vier Patienten mit Lebercirrhose untersucht. Die Diagnosen wurden dabei auf Grund der im Folgenden wiedergegebenen Angaben aus den Krankengeschichten gestellt (die aufgeführten Laborwerte stimmen zeitlich mit dem Datum der Phosphatidanalyse überein):

1. F.S., weibl., 43 J., Hepatitis: Beginn der Krankheit mit Juckreiz am ganzen Körper, drei Tage später Gelbfärbung der Haut, Abgeschlagenheit, Anorexie, Obstipation, Umfärbung von Stuhl und Urin. Bilirubin: gesamt 12,0 mg%, direkt 7,63 mg%, alk. Phosphatase 36,8 KAE, SGOT 1031 WE; ausserdem hatte die Patientin einen leichten Diabetes mellitus.

2. U.S., weibl., 31 J., Hepatitis: etwa eine Woche vor Klinikaufnahme juckendes Erythem an Beinen und Händen, schmerzhaftes Gelenkschwellungen. Dann zunehmende Abgespanntheit, Appetitlosigkeit, Erbrechen nach den Mahlzeiten und Dunkelfärbung des Urins. Bilirubin: gesamt 11,45 mg%, direkt 6,75 mg%, SGOT 1916 WE, SGPT 1493 WE.

3. B.H., weibl., 65 J., Lebercirrhose: zwischen 1950 und 55 häufig Gallenkoliken. Seit drei Monaten vor der Klinikaufnahme, Übelkeit, Meteorismus, Obstipation, Gewichtsverlust, Schleimhautblutungen und Schluckbeschwerden. Leber 3 QF verbreitert. Während des Klinikaufenthaltes keine erhöhten Bilirubinwerte. Alk. Phosphatase 23,8 KAE, SGOT 65,4 WE, SGPT normal, Quick 60 %.

4. G.S., männl., 60 J., Lebercirrhose: seit drei bis vier Jahren Leberbeschwerden; vor anderthalb Jahren Auftreten eines Ascites; die Leber war handbreit vergrössert, es bestand stets ein leichter Ikterus. Die histologische Untersuchung der Leber zeigte mittelgradige Veränderungen im Sinne einer Laennec'schen Cirrhose.

5. E.T., männl., 33 J., Lebercirrhose: Alkoholiker, seit fünf Jahren Gewichtsverlust, häufig Nasenbluten, Abneigung gegen fette Speisen. Vor drei Jahren wurde eine Leberbiopsie durchgeführt und ein starker cirrhotischer Umbau der Leber festgestellt. Vor einem Jahr portocavale Anastomose wegen Oesophagusvarizen. Die Leber war hart und 3 QF verbreitert. Im Oktober 1963 stationäre Aufnahme im Präkoma: Bilirubin: gesamt 5,03 mg%, direkt 2,43 mg%, SGOT 130 WE, Thymol 3,7, Quick 35 %.

6. L.F., männl., 63 J., Lebercirrhose: vor einem Jahr wurde auf Grund der subjektiven Beschwerden, Ikterus, Blutungen aus Oesophagusvarizen, vergrößerter Leber, erhöhter Werte von alk. Phosphatase und Transaminasen die Diagnose Lebercirrhose gestellt und durch Biopsie gesichert. Es wurde eine Leber-shuntoperation durchgeführt, nach der sich eine ammoniakalische Encephalopathie entwickelte. Zum Zeitpunkt der Phosphatidbestimmung befand sich der Patient nur in ambulanter Behandlung; die Laborbefunde waren bis auf die alk. Phosphatase von 22,0 KAE und ganz leicht erhöhte SGOT normal.

Die Ergebnisse der Phosphatidauffrennung bei diesen Patienten sind in Tab. III wiedergegeben; sie stimmen weitgehend mit den Beobachtungen von PHILLIPS (14) überein, dessen Werte zum Vergleich Tab. IV zu entnehmen sind (die von ihm ermittelten Normalwerte sind in Tab. II enthalten).

Im Ganzen scheinen Hepatitis- und Cirrhoseseren in ähnlicher Weise, erstere jedoch deutlicher verändert zu sein.

Der Lysolecithinanteil betrug bei den Normalseren im Mittelwert 7,1 % bei einem Normbereich zwischen 2,39 und 11,75 %. Bei fünf der sechs untersuchten Seren Leberkranker lag der Lysolecithinanteil deutlich unter dem Mittelwert von Gesunden. Die niedrigsten Werte fanden sich bei den beiden Hepatitis-Patienten, von denen jedoch nur einer ausserhalb des Normbereichs lag (s. auch Abb. 1 und 2).

Der Senkung des Lysolecithins entsprach eine Steigerung des Lecithinanteils. Bei denselben fünf Seren war der Lecithinanteil mit durchschnittlich 81,2 % gegenüber dem Mittelwert von 74,8 % deutlich erhöht, wobei die Seren mit dem niedrigsten Lysolecithin die höchsten Lecithinmengen enthielten. Oberhalb des Normbereichs (66,28-83,32 %) lag wiederum nur ein Hepatitis-Serum.

Im Vergleich zu dem mittleren Normalwert von 16 % für Sphingomyelin waren die Werte bei den Hepatitis-Patienten und bei zweien der Cirrhose-Patienten erniedrigt, so dass die von PHILLIPS (14) beschriebene Senkung des Verhältnisses Sphingomyelin : Lecithin sowohl durch erhöhte Lecithin- als auch durch erniedrigte Sphingomyelinwerte bedingt zu sein scheint.

Die von PHILLIPS (14) beobachtete Erhöhung der Relativwerte für Kephalin bei Hepatitis konnte nicht bestätigt werden; die Werte lagen eher niedrig normal.

PHILLIPS (14) nimmt ein umgekehrt proportionales Verhältnis zwischen dem Gehalt des Serums an direktem Bilirubin und dem an Lysolecithin an, d. h., dass die Abnahme an Lysolecithin der Zunahme an direktem Bilirubin entspricht. Dies trifft auch hier für die drei Seren mit erhöhten Bilirubinwerten (nämlich die beiden Hepatitis-Seren und ein Cirrhose-Serum; Bilirubinwerte s. Tab. III) zu. Dass aber auch bei anikterischen Cirrhose-Seren -wenn auch weniger deutlich- der Anteil an Lysolecithin vermindert und der an Lecithin erhöht ist, macht denkbar, dass diese Veränderung Ausdruck des Leberzellschadens -und evtl. dadurch bedingten verminderten Lecithinabbaus- sein könnte (dass Lysophosphatide als Intermediärstoffe beim Lecithinabbau auftreten, zeigten Versuche von ETIENNE und POLONOWSKI (6)).

HYPERCHOLESTERINÄMIE

Die zehn untersuchten hypercholesterinämischen Seren (Ergebnisse s. Tab. V) stammten von insgesamt acht Patienten, die alle gleichzeitig auch erhöhte Gesamtlipoidwerte hatten, teils bedingt durch einen Diabetes mellitus, teils ohne erkennbare Ursache (essentielle Hypercholesterinämie). Diejenigen mit Gesamtposphatidwerten unter 400 mg% standen, mit Ausnahme des Patienten A.O., bereits längere Zeit unter Behandlung mit cholesterinspiegelsenkenden Medikamenten. Die drei Analysen mit den höchsten Gesamtwerten stammten von einer 24-jährigen Patientin (Ch. Z.) mit familiärer Hypercholesterinämie, bei der gleichzeitig eine Schwangerschaft bestand, und die wegen eines Herzinfarktes in die Klinik aufgenommen wurde. Die untersuchten Seren sind im Abstand von sechs und vier Wochen entnommen.

Die Normalwerte der Tab. I zeigen, dass die relative Zusammensetzung der Phosphatide im Normbereich unabhängig ist von den Gesamtwerten. Darüber hinaus zeigen nun die Ergebnisse bei hypercholesterinämischen Seren, dass auch an abnormen Erhöhungen der Gesamtwerte alle Fraktionen beteiligt sind. Auch die relative Zusammensetzung lässt keine entscheidende Mehrbeteiligung einer Fraktion gegenüber den anderen erkennen. Insbesondere der Anteil an Lecithin entspricht dem bei normalen Seren. Der Sphingomyelinanteil scheint evtl. auf Kosten des Lysolecithins leicht erhöht. Er beträgt im Durchschnitt 18,5 % gegenüber 16 % bei Gesunden, der des Lysolecithins 4,6 gegenüber 7,1 %. Mit zunehmenden Gesamtposphatidwerten scheint der relative Anteil an Lysolecithin abzunehmen; dies wird jedoch erst bei den drei höchsten Gesamtwerten deutlicher, die alle derselben Patientin zugehören, so dass diese Abhängigkeit noch der Bestätigung durch weitere Fälle bedarf. In den Abbildungen 1 und 2 sind die relativen und absoluten Lysolecithinwerte aller hier untersuchten Patienten in Abhängigkeit von den Gesamtposphatidwerten aufgetragen.

NOTHMAN u. a. (11) haben die Kephalinwerte bei Gesunden und Patienten

mit Hypercholesterinämie untersucht. Die von ihnen angegebenen Normalwerte für Colamin-Kephalin stimmen mit 5,1 mg% und einem relativen Anteil von 2,5 % an den Gesamtposphatiden gut mit den Normalwerten der Tab. I überein. Die Kephalinwerte bei Hypercholesterinämie liegen bei ihm allerdings wesentlich höher als die hier gefundenen. Bei einem durchschnittlichen Wert der Gesamtposphatide von 312 mg% (bei 19 Analysen) gibt NOTHMAN (11) eine Steigerung des Kephalins auf 25,9 mg% bzw. 5,1 % der Gesamtposphatide an, während die aus Tab. V berechneten Durchschnittswerte bei 12,4 mg% bzw. 2,8 % Kephalin von 486 mg% Gesamtposphatiden liegen.

IV. VERSUCHE ZUR AUFLÄRUNG DER SPHINGOMYELINFRAKTION

SWEeley und Mitarb. (20, 21) haben die Fettsäuren und Sphingosine des Sphingomyelins aus menschlichem Serum untersucht und fanden unter den Fettsäuren zu über 40 % Palmitinsäure, ausserdem aber alle Fettsäuren von C_{14} - C_{25} , und zwar überwiegend gesättigte; unter den Alkoholen des Sphingomyelins fanden sie 76 % Sphingosin, 8 % Dihydrosphingosin und 16 % einer noch nicht identifizierten Substanz.

Die Dünnschichtchromatographie der Phosphatide lässt deutlich eine Auftrennung des Sphingomyelins in zwei Fraktionen mit nur sehr geringem R_f -Wert-Unterschied erkennen. Ob es sich dabei um eine Trennung nach unterschiedlichen Fettsäuren oder nach Sphingosinen handelt, ist bisher noch nicht bekannt (27). Durch die im Folgenden wiedergegebenen Versuche sollte gezeigt werden, dass es sich bei beiden Fraktionen tatsächlich um Sphingomyeline handelt und durch Trennung ihrer Komponenten die Voraussetzung zu ihrer weiteren Identifizierung gegeben werden.

FÄRBUNGSVERSUCHE

Beide Fraktionen lassen sich durch Sprühreagentien nachweisen, die für quaternäre Ammoniumbasen spezifisch sind, wie dem Dragendorff-Reagens nach BREGOFF-DELWICHE (19) und dem Jodplateatreagens nach STAHL (19) bzw. der von WALDI (23) angegebenen Modifikation desselben. Beide Fraktionen enthalten demnach als basischen Anteil Cholin.

Beim Sprühen der Platte mit 50 %iger H_2SO_4 und anschliessendem Veraschen fällt auf, dass die Fraktion mit dem höheren R_f -Wert die quantitativ grössere ist. Dieser Unterschied wird deutlicher bei Schwärzung der Fraktionen mit Osmiumtetroxyd, das für den Nachweis von Doppelbindungen spezifisch ist (die Platten werden hierzu längere Zeit in einer geschlossenen, mit Osmiumdämpfen gesättigten Kammer aufbewahrt (27)). Da sich beide Fraktionen schwärzen lassen, müssen beide Doppelbindungen enthalten, die obere jedoch relativ mehr.

Es ist unwahrscheinlich, dass es sich bei einer der beiden Fraktionen nur um ein bei der Verarbeitung entstehendes Abbauprodukt handelt, denn das quantitative Verhältnis beider Fraktionen zueinander bleibt auch bestehen, wenn man die Sphingomyeline von der Platte abkratzt, neu eluiert und rechromatographiert.

MILDE ALKALIHYDROLYSE DER GLYCERINPHOSPHATIDE

Dass es sich tatsächlich um zwei Sphingomyelinfraktionen handelt, beweist das Ergebnis der Alkalihydrolyse (nach BRANTE, 3): der Lipoidextrakt wurde eingedampft, mit n KOH versetzt (1,8 ml auf 0,5 bis 1,5 mg Phosphatide), in grösseren Zeitabständen gründlich geschüttelt und über Nacht bei 37°C stehengelassen; darauf wurde die Lösung mit $6\text{ }n$ HCl neutralisiert und mit Chloroform ausgeschüttelt. Nach anschliessender Chromatographie lassen sich nur noch die zwei Sphingomyelinfraktionen nachweisen, während die Spaltprodukte der Glycerinphosphatide an die Front geschwemmt werden oder kurz darunter liegen bleiben.

HYDROLYSE DES SPHINGOMYELINS MIT $\text{Ba}(\text{OH})_2$

Isolierung des Sphingomyelins:

Aus 80 ml Serum wurde ein Lipoidextrakt hergestellt, eingedampft und mit n KOH wie oben verseift und anschliessend mit Dünnschichtchromatographie die Vollständigkeit der Hydrolyse der Glycerinphosphatide geprüft. Zur Abtrennung des Sphingomyelins von den Hydrolysenprodukten der übrigen Phosphatide wurden 0,5 bis 1 mm dick beschichtete Chromatographieplatten verwandt (35 g Kieselgel auf 60 ml H_2O), auf die eine 200-300 mg Gesamtlipoiden entsprechende Menge aufgetragen werden kann. Nach der Chromatographie wurden die Platten mit Rhodamin 6G besprüht und unter der Quarzanalysenlampe der Sphingomyelinbereich markiert. Dieser wurde von der Platte abgekratzt und mit einem Chloroform-Methanol-Gemisch 1 : 1 das Sphingomyelin vom Kieselgel eluiert. Bei nochmaliger dünn-schichtchromatographischer Kontrolle färbt sich nun nur noch Sphingomyelin an.

Hydrolyse:

Das Sphingomyelin enthaltende Chloroform-Methanol-Gemisch wurde eingedampft und nach der Vorschrift von BRANTE (4) weiterverarbeitet: das Phosphatid wird in wenig 96 %igem Alkohol -evtl. unter kurzem Erhitzen- gelöst, mit gesättigter Bariumhydroxydlösung (2 ml auf 1 bis 4 mg Sphingomyelin) versetzt und eine Stunde einer Temperatur von 100°C ausgesetzt (erst, wenn der Alkohol abgedampft ist, kann das Gefäss lose mit einem Uhrglasdeckel abgedeckt werden). Nach einer Stunde wird noch einmal die gleiche Menge $\text{Ba}(\text{OH})_2$ zugegeben und eine weitere Stunde bei 100°C verseift. Anschliessend lässt man die Flüssigkeit fast ganz verdampfen und setzt $6\text{ }n$ HCl zur Neutralisation zu. Mit einem Äther-Petroläther-Gemisch 1 : 1 kann man aus der leicht basischen Lösung Sphingosin ausschütteln, aus saurer Lösung die freien Fettsäuren.

Chromatographie der aus der basischen Lösung ausgeschüttelten Substanz

in dem für Phosphatide angegebenen Fließmittel ergibt etwa in Höhe der halben Laufstrecke eine mit Ninhydrinreagens (50 ml 0,2 %ige Ninhydrinlösung in Äthanol, 10 ml Eisessig und 2 ml 2,4,6-Collidin (27)) färbbare -also freie NH_2 -Gruppenenthaltende-Fraktion, die jedoch auf ihre Einheitlichkeit noch nicht genauer untersucht wurde.

Ein Parallelversuch, bei dem Cerebrosid in gleicher Weise mit Bariumhydroxyd verseift wurde, ergab zwei ninhydrinpositive Fraktionen, deren obere im R_f -Wert mit der aus Sphingomyelin gewonnenen Fraktion übereinstimmt. Die R_f -Werte der beiden Fraktionen sind jedoch so unterschiedlich, dass es unwahrscheinlich ist, dass sich beide Substanzen nur durch eine Doppelbindung unterscheiden und damit als Sphingosin und Dihydrosphingosin gedeutet werden könnten; vielmehr ist die untere Fraktion wahrscheinlich als Psychosin anzusprechen, d. h. ein Hydrolysenprodukt, bei dem keine Abspaltung des Zuckers vom Sphingosin erfolgt ist.

Serum	Gesamt- phosphatide	Lyso- lecithin	Spingo- myelin mg/100 ml	Lecithin Serum	Kephalin	Lyso- lecithin %	Spingo- myelin %	Lecithin	Kephalin
R.S. ♂ 15 J. Vit.D-Intox.	188,5	15,8	34,2	136,8	11,8	8,4	18,2	72,5	1,0
A.H. ♀ 42 J. Fe-mangel An.	188,5	10,2	31,8	142,3	4,9	5,4	16,9	75,5	2,6
B.L. ♀ 38 J. gesund	192,5	11,0	27,4	152,9	1,7	5,7	14,2	79,4	0,9
H.B. ♀ 66 J. M.Hodgkin	204,5	10,0	41,3	150,3	2,9	4,9	20,2	73,5	1,4
V.S. ♀ 75 J. gesund	205,0	9,0	30,3	164,0	1,4	4,4	14,9	80,0	0,7
M.M. ♂ 55 J. Durchbl.stör.	210,3	15,1	33,0	155,8	6,3	7,2	15,7	74,1	3,0
unbekannt	215,0	15,0	25,0	167,5	7,5	6,6	12,3	77,7	3,4
unbekannt	247,5	20,5	35,5	185,8	5,7	8,3	14,3	75,1	2,3
unbekannt	247,5	26,0	36,8	176,3	8,5	10,5	14,9	71,2	3,4
D.S. ♀ 24 J. gesund	262,5	19,7	43,6	195,0	4,7	7,5	16,6	74,1	1,8
unbekannt	262,5	23,5	45,8	183,0	10,3	8,9	17,4	69,8	3,9
m	m	16,0	35,0	169,5	5,06	7,07	16,0	74,8	2,21
S	S	+ 4,87	+ 6,09	+ 37,35	+ 2,83	+ 1,8	+ 1,79	+ 3,28	+ 1,1
S _m	S _m	+ 1,43	+ 1,83	+ 11,25	+ 0,85	+ 0,54	+ 0,53	+ 0,98	+ 0,33

TABELLE I

Normalwerte der Phosphatidfraktionen

Autor	Lyso- lecithin	Sphingo- myelin % der Gesamtphosphatide	Lecithin	Kephalin	Zahl der Fälle	Methode
PHILLIPS	(14)	7,7	19,0	68,2	5,0	15
GJONE u. a.	(7)	8,9	18,4	66,4	6,4	8
MARINETTI u. a.	(9)	9,1	21,1	67,8	1,9	2
NELSON u. a.	(10)	+	20,9	74,4 ⁺	4,7	5
ETIENNE u.	(6)	10,0	21,0	61,0	8,0	?
POLONOWSKI	(12)	8,6	20,1	71,2	-	6
NYE u. a.	(26)	7,7	16,8	66,8	4,1	1
ZÖLLNER u. KIRSCH		7,1	16,0	74,8	2,2	11
Mittelwert ¹ aus Tabelle I						Dünnschicht- chromatographie

TABELLE II

Normale Phosphatidwerte verschiedener Autoren
(⁺ Lysolecithin und Lecithin zusammen bestimmt)

Patient	Gesamt-lipide	Gesamt-cholesterin	Gesamt-phosphatide	mg% Lyso-lecithin	Spingo-myelin	Lecithin	Kephalin
F.S. Hepatitis	800	253	406,0	4,9	38,16	361,8	1,2
U.S. Hepatitis	780	183	308,8	8,4	39,9	256,2	4,2
B.H. Lebercirrhose	640	179	140,6	5,8	25,0	107,5	2,3
G.S. Lebercirrhose	550	198	184,0	13,3	29,8	131,5	9,4
E.T. Lebercirrhose	840	320	293,7	11,5	38,4	238,2	5,0
L.F. Lebercirrhose	490	160	160,0	8,5	23,2	127,0	1,3

Patient	% der Gesamtphosphatide				mg%	
	Lyso-lecithin	Spingo-myelin	Lecithin	Kephalin	direktes Bilirubin	
F.S. Hepatitis	1,2	9,4	89,1	0,3	7,63	
U.S. Hepatitis	2,7	12,9	83,0	1,4	6,75	
B.H. Lebercirrhose	4,1	17,8	76,5	1,7	nicht erhöht	
G.S. Lebercirrhose	7,2	16,2	71,5	5,1	nicht erhöht	
E.T. Lebercirrhose	3,9	13,1	81,3	1,7	2,43	
L.F. Lebercirrhose	5,3	14,6	79,3	0,8	nicht erhöht	

TABELLE III

Lipid- und Phosphatidwerte bei Leberkrankheiten.

Diagnose	direktes Serum- bilirubin	Lyso- lecithin	Sphingo- myelin	Lecithin	Kephalin
	mg%		% der Gesamtphosphatide		
	12,3	2,6	11,9	80,7	4,8
primäre	40,8	2,8	13,4	79,9	3,9
biliäre Cirrhose	11,4	1,7	15,6	78,3	4,4
	19,6	2,0	16,1	75,9	6,0
	7,6	4,0	16,3	75,4	4,3
Stauungsikterus	1,8	5,0	16,4	72,6	6,0
akute					
Leberinsuffizienz	28,8	1,3	17,2	77,7	3,8
	6,2	7,0	13,1	73,9	6,0
	20,8	2,8	16,0	73,0	8,1
Hepatitis	9,2	3,9	14,8	73,5	7,8
	16,0	1,1	15,8	76,5	6,6
	3,6	7,3	16,9	70,2	5,6
	0,8	4,9	20,3	69,5	5,3
Cirrhose	1,2	4,6	17,7	72,0	5,7
	0,9	7,4	17,4	70,9	4,4

TABELLE IV

Ergebnisse der Phosphatidauftrennungen bei Leberkrankheiten von G.B. PHILLIPS
(14)

Patient	Gesamt phosphatide mg%	Lyso- lecithin	Sphingo- myelin	Lecithin mg%	Kephalin	Lyso- lecithin	Sphingo- myelin % der Gesamphosphatide	Lecithin	Kephalin	Gesamt- lipide mg%	Gesamt- cholesterin mg%
Ch. Z.	717,0	13,0	178,0	516,0	10,0	1,8	24,8	72,0	1,4	2210	901
"	694,5	23,1	143,3	503,8	24,3	3,3	20,6	72,5	3,5	2300	985
"	725,0	16,0	148,0	542,0	19,0	2,2	20,4	74,8	2,6	2670	1002
M.S.	557,5	35,0	110,0	412,0	+	6,3	19,7	74,1	+	2760	536
M.B.	530,0	29,8	99,8	385,0	15,4	5,6	18,8	72,6	2,9	2330	570
A.R.	397,0	19,5	75,5	287,0	15,0	4,8	19,0	72,4	3,8	1510	373
H.S.	360,0	17,3	64,1	268,3	10,0	4,8	17,8	74,7	2,7	1080	352
A.O.	348,0	20,2	45,6	271,4	10,8	5,8	13,1	78,0	3,1		
H.K.	272,5	11,4	37,5	214,0	9,5	4,2	13,8	78,5	3,5	870	224
G.P.	263,0	20,3	45,8	188,0	9,2	7,6	17,4	71,5	3,5	1240	264

TABELLE V

Lipid- und Phosphatidwerte bei Hypercholesterinämie

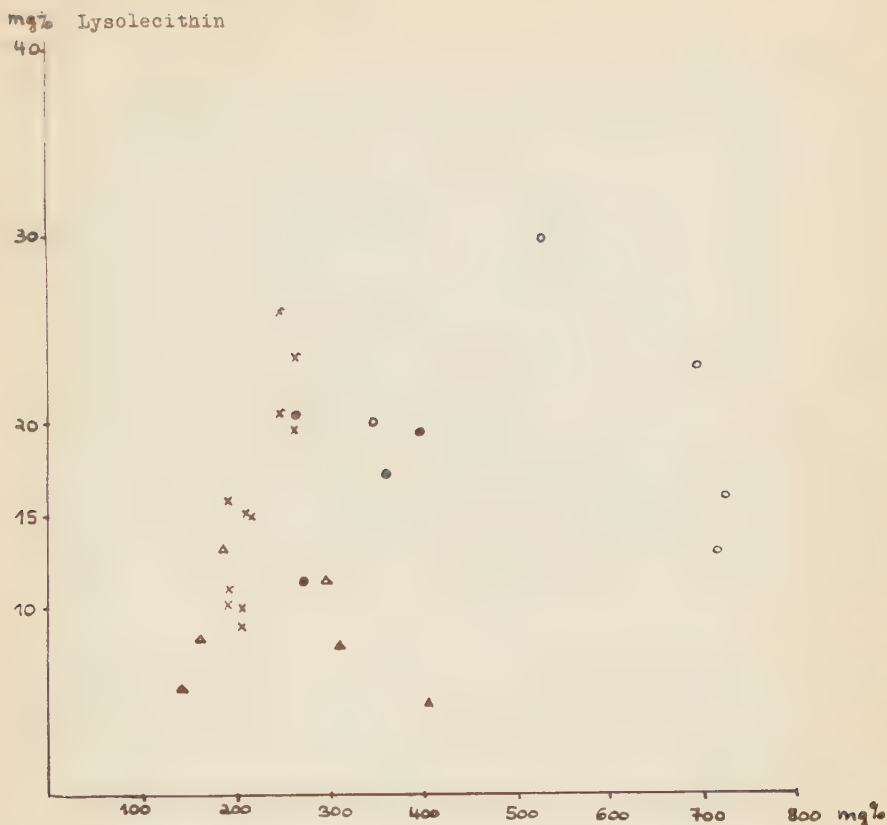


ABBILDUNG 1

Lysolecithin in Abhängigkeit von den Gesamtphosphatiden

× = bei Gesunden

▲ = bei Hepatitis

△ = bei Lebercirrhose

○ = bei Hypercholesterinämie

● = bei Hypercholesterinämie (unter Behandlung)

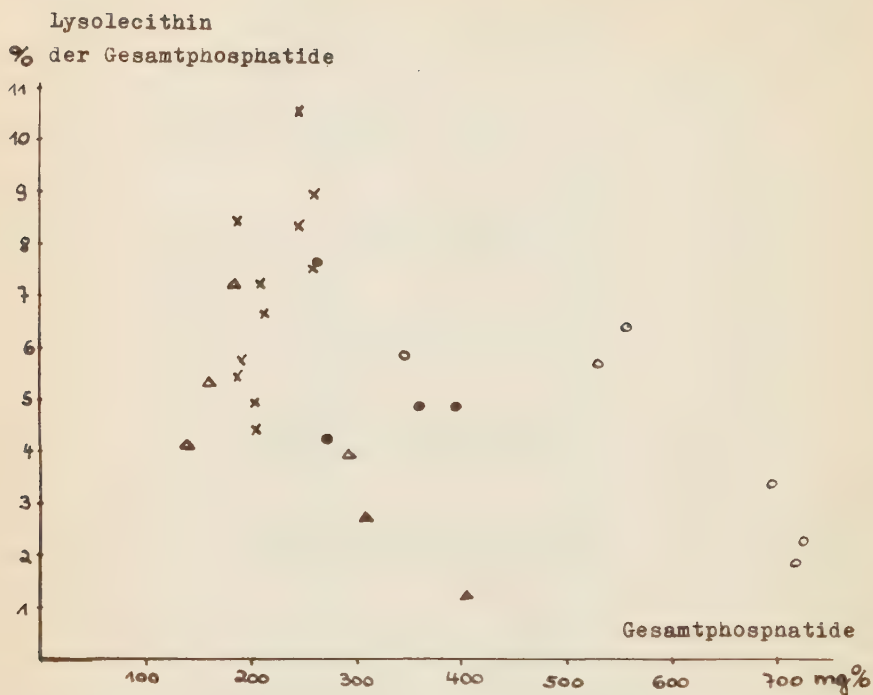


ABBILDUNG 2

Relativwerte für Lysolecithin in Abhängigkeit von den Gesamtphosphatiden

x = bei Gesunden

▲ = bei Hepatitis

△ = bei Lebercirrhose

○ = bei Hypercholesterinämie

● = bei Hypercholesterinämie (unter Behandlung)

VII. ZUSAMMENFASSUNG

Die Serumphosphatide von 11 Gesunden, 6 Patienten mit Leberkrankheiten und 8 Patienten mit Hypercholesterinämie wurden dünn-schichtchromatographisch in die vier Fraktionen Lysolecithin, Sphingomyelin, Lecithin und Kephalin aufgetrennt und diese quantitativ bestimmt. Die Normalwerte werden mit denen anderer Autoren verglichen und die Abweichungen diskutiert. Die Ergebnisse bei Leberkranken zeigen gegenüber denen bei Gesunden eine Verminderung von Sphingomyelin und Lysolecithin und eine Erhöhung des Lecithins, die bei Hepatitiden ausgeprägter ist als bei Cirrhosen. Die Untersuchungen bei Patienten mit Hypercholesterinämie ergaben eine fast gleichmässige Beteiligung aller Fraktionen an der Gesamterhöhung; die Relativwerte für Lysolecithin nehmen möglicherweise mit zunehmenden Gesamtposphatiden ab.

Ausserdem wurde die Sphingomyelinfraktion, die bei der Dünnschichtchromatographie deutlich zweigipfelig ist, eingehender untersucht. Durch Färbung mit spezifischen Sprühreagentien und milde Alkali-hydrolyse der Cholinphosphatide mit anschliessender Rechromatographie des Sphingomyelins wird nachgewiesen, dass es sich bei beiden Gipfeln tatsächlich um Sphingomyeline handelt.

VIII. LITERATUR

1. BARTLETT, G.R.:
Phosphorus assay in column chromatography
J.Biol.Chem.234, 466 (1959)
2. BIRD, H.L., H.F.BRICKLEY, J.P.COMER, P.F.HARTSAW and M.L.JOHNSON:
Quantitative thin layer chromatography I. Technique and application to the assay of a steroid: 6-chloro-17 α -hydroxypregna-4,6,-diene-3,20-dioneacetate.
Division of Analytical Chemistry, 142nd Meeting ACS, Atlantic City, N.J., September 1962
3. BRANTE, G.:
Studies of the lipids in the nervous system.
Acta physiol.Scand.18, Supplementum 63, Appendix II, S. VIII
4. s. 3., S.XIV
5. CERNY, V., J.JOSKA, L.LABLER:
Coll.Czech.Chem.Comm.26 1658 (1961)
6. ETIENNE, J. et J.POLONOWSKI:
Evolution des lipides au cours de l'incubation du serum III:
Etude des phospholipides.
Bull.Soc.Chim.Biol. (Paris) 42, 857 (1960)
7. GJONE, E., J.F.BERRY and D.A.TURNER:
The isolation and identification of lecithin from lipid extracts of normal human serum.
J.Lipid Res.1, 66 (1959)
8. HABERMANN, E., G.BANDTLOW u. B.KRUSCHE:
Bestimmungen von Plasmaphospholipoiden nach Dünnschichtchromatographie.
Klin.Wschr.39, 816 (1961)
9. MARINETTI, G. v., M.ALBRECHT, T.FORD and E.STOTZ:
Analysis of human plasma phosphatides by paper chromatography.
Biochim.Biophysica Acta 36, 4 (1959)
10. NEJSON, G.J. and N.K.FREEMAN:
Serum phospholipid analysis by chromatography and infrared spectrophotometry.
J.Biol.Chem.234, 1375 (1959)

11. NOTHMAN, M.M. and S. PROGER:
Cephalins in the blood,
J. Amer. Med. Ass. 179, 40 (1962)
12. NYE, W.H.R., C. WATERHOUSE and G.v. MARINETTI:
The phosphatides of human plasma I: Normal values determined
by paper and column chromatography.
J. Clin. Invest. 40, 1194 (1961)
13. NYE, W.H.R. and C. WATERHOUSE:
The phosphatides of human plasma II: Abnormalities encountered
in the nephrotic syndrome.
J. Clin. Invest. 40, 1202 (1959)
14. PHILLIPS, G.B.:
The lipid composition of serum in patients with liver disease.
J. Clin. Invest. 39, 1639 (1960)
15. RANDEKATH, K.:
Dünnschichtchromatographie,
Verlag Chemie G.m.b.H. Weinheim/Bergstr. 1962, S.143
16. SKIDMORE, W.D. and ENTENMAN:
Two-dimensional thin-layer chromatography of rat liver phosphatides.
J. Lipid Res. 3, 471 (1962)
17. SKIPSY, V.P., R.F. PETERSON and M. BARCLAY:
Separation of phosphatidyl ethanolamine, phosphatidyl serine and
other phospholipids by thin layer chromatography.
J. Lipid Res. 3, 467 (1962)
18. SPERRY, W.M.:
Lipid analyses,
Methods of biochemical analyses 2, 83 New York/London:
Interscience Publishers (1955)
19. "Dünnschichtchromatographie"
herausg. von Egon STAHL
Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1962, S.497 ff
20. SWEELEY, C.C.:
Purification and partial characterisation of sphingomyelin from
human plasma.
J. Lipid Res. 4, 402 (1963)

21. SWEELEY, C.C. and E.A.MOSCATELLI:
Qualitative microanalysis and estimation of sphingolipid bases.
J.Lipid.Res.1, 40 (1959)
22. WAGNER, H.:
Neuere Ergebnisse auf dem Gebiet der Isolierung und Analytik
von Phosphatiden und Glykolipiden.
Fette, Seifen, Anstrichmittel 62, 1115 (1960)
23. WALDI, D.:
Dünnschichtchromatographie quaternärer Ammoniumbasen.
Die Naturwissenschaften 50, 614 (1963)
24. ZIEVE, L.VOGEL and CARLETON:
An improvement in quantitative separation of phospholipids
with silicic acid impregnated paper.
Proc.Soc.exp.Biol.105, 508 (1960)
25. ZÖLLNER, N. u. K.KIRSCH:
Über die quantitative Bestimmung von Lipiden mittels der
vielen natürlichen Lipiden (allen bekannten Plasmalipiden)
gemeinsamen Sulfophosphovanillinreaktion.
Zschr.exper.Med.135, 545 (1962)
26. ZÖLLNER, N. u. K.KIRSCH:
Die säulenchromatographische Trennung der Plasmalipoide.
Zschr.exper.Med.134, 10 (1960)
27. ZÖLLNER, N. u. G.WOLFRAM:
Dünnschichtchromatographische Systeme zur Trennung der Plas-
malipoide.
Klin.Wschr.40, 1101 (1962)
28. ZÖLLNER, N. u. G.WOLFRAM:
Untersuchungen über die Dünnschichtchromatographie von Li-
poiden.
Klin.Wschr.40, 1098 (1962)

Herrn Prof. Dr. med. N. ZÖLLNER möchte ich für
Überlassung des Themas und Stellung des Arbeitsplatzes,
sowie für seine vielen Ratschläge bei der Durchführung
der Arbeit sehr herzlich danken.

LEBENS LAUF

Am 2.12.1938 wurde ich als Tochter des Arztes Dr.med.Hans Scholderer und seiner Ehefrau Dr.med.Katharina Scholderer, geb.Buisdorf, in Hamburg geboren. Vom Herbst 1944 bis zum Frühjahr 1949 besuchte ich eine Hamburger Volksschule, anschliessend die "Wissenschaftliche Oberschule für Mädchen" in Hamburg-Harburg, die ich am 15.2.1957 mit dem Abitur abschloss. Bis zum Herbst 1958 lebte ich dann in Washington D.C., USA, und wurde nach meiner Rückkehr ins Leibniz-Kolleg der Universität Tübingen zum studium generale aufgenommen. Im Sommersemester 1959 begann ich dort mit dem Medizinstudium und machte im Frühjahr 1960 das Vorphysikum und im Herbst 1961 das Physikum. Während der sechs klinischen Semester studierte ich an der Universität München und bestand dort am 16.12.1964 die ärztliche Prüfung.

